

OPTIMASI PRODUKSI BAKTERIOSIN OLEH *STREPTOCOCCUS sp* DAN AKTIVITAS ANTI BAKTERINYA

THE OPTIMALIZATION OF BACTERIOCYN PRODUCTION BY *STREPTOCOCCUS SP.* AND IT'S ANTIBACTERIAL ACTIVITIES

Siti Umniyati, Astuti, Bernadetta Octavia
Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA UNY

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui optimasi pH dan suhu pada medium MRS dapat mempengaruhi produksi bakteriosin oleh *Streptococcus sp.*, dan untuk mengetahui apakah efek bakteriosin dari BAL yang ditumbuhkan pada media MRS dapat mempengaruhi pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini adalah dapat mengetahui produksi bakteriocin dari *streptococcus sp* dan aktivitas anti bakterinya, untuk menambah pengetahuan tentang bakteri asam laktat dari saluran pencernaan ikan dan menambah wawasan ilmu pengetahuan tentang bakteriocin.

BAL AST 6 menghasilkan bakteriosin sebagai metabolit ekstraseluler yang mampu menghambat dan menekan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yaitu dengan memperpanjang fase lag pertumbuhan bakteri.

Produksi bakteriosin mencapai maksimum pada akhir fase logaritma (awal stationer) dan fase pada selanjutnya akan terjadi penurunan produksi bakteriosin karena adanya produksi enzim-enzim proteolitik yang semakin meningkat.

Bakteriosin yang diproduksi selanjutnya diabsorpsi pada permukaan sel absorpsi sangat dipengaruhi oleh pH. Pada pH mendekati pH 6 absorpsi mencapai 93-100%. Absorpsi terendah ($\leq 5\%$) terjadi pada pH 1,5 – 2.

Untuk lebih mengoptimalkan hasil penelitian ini maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai jumlah sel dari produk akhir efek penghambatan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci : bakteriosin, *Staphylococcus aureus*, *streptococcus*

ABSTRACT

The research is aimed to find the answer whether the Lactic Acid Bacteria isolation and characterization of the fish's digestion channel may produce the Lactic Acid Bacteria with the high lactic contents and to discover whether the effects of bacteriocyn from Lactic Acid Bacteria which has been growth through the MRS medium can influence the growth of *Staphylococcus aureus*.

The benefit which can be gathered through the research are that we can understand the bacteriocyn production from *Streptococcus sp.* and also it's antibacterial activity and the research gives more know ledges about Lactic Acid Bacteria and to give more concepts about bacteriocyn. Lactic Acid Bacteria AST 6 produces bacteriocyn as the extra celular metabolite which can block and push the growth of *Staphylococcus aureus* 158 by lengthening the bacterial growth phase lag.

The maximum bacteriocyn production can be reached at the end of the logarithmic phase (the beginning stationer) and at the next phase, the declining of bacteriocyn production will occur as the result of the increasng of *proteolitic* enzyme production.

The produced bacteriocyn is then absorbed at the surface of the cell. The absorption is strongly influenced by the pH. At the pH closes by pH 6, the absorption attains 93-100%. The lowest absorption level occurs at the pH of 1,5 – 2

To optimize the result of the reseach it needs any advanced researches about the cell amount of the final product of blocking effects to the *Staphylococcus aerus* bacterial.

Key words : bakteriocin, *Staphylococcus aureus*, *streptococcus*

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Bakteriosin yang merupakan salah satu substansi antimikrobia bakteri asam laktat, dewasa ini telah menarik minat para ahli untuk menelitinya lebih jauh, karena kemampuannya sebagai agensia *biological preservative* yaitu substansi antimikrobia yang mempunyai kemampuan menghambat bakteri patogen ataupun mencegah pertumbuhan bakteri pembusuk. Sehingga apabila diterapkan dalam produk makanan dapat memperpanjang daya simpannya.

Bakteriosin merupakan polipeptida yang mempunyai aktifitas antibakteri yang dihasilkan oleh sejumlah mikrobia termasuk bakteri asam laktat. Kemampuannya dalam membunuh bakteri pembusuk atau patogen serta keamanannya yang terjamin telah menjadikan bakteriosin sebagai biopreservatif pada sistem pangan.

Bakteri asam laktat (BAL) telah digunakan selama berabad-abad untuk fermentasi dan pengawetan makanan, contohnya daging, susu, dan sayuran dan pada umumnya bakteri ini tergolong aman (*generally recognized as safe* - GRAS). Bakteri ini menghasilkan berbagai produk metabolisme yang penting termasuk asam organik, komponen flavor, dan berbagai antimikrobia, khususnya bakteriosin. Klaenhammer 1988, mendiskripsikan sifat-sifat umum yang terdapat pada bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat yaitu sensitif terhadap protease stabil terhadap panas, bakterisidal dengan spektrum penghambat yang sempit. Walaupun beberapa bakteriosin (nisin, pediosin dan nakasin) yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat memiliki spektrum yang luas, yaitu mampu menghambat bakteri Gram negatif (Kalchayanad, et al.,1992;Steven,et al;1991). Berdasarkan sifat-sifat menguntungkan yang dimiliki oleh bakteriosin, khususnya yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat, maka komponen ini memiliki potensi untuk digunakan sebagai bahan pengawet makanan (Daeschel, 1989; Delves-Bbroughton, 1990).

Pada umumnya bakteri asam laktat mempunyai kemampuan untuk memproduksi bahan pengawet biologi (*biological preservative*) yang dikenal sebagai

bakteriosin. Bakteriosin adalah suatu protein berantai pendek yang bersifat bakteristatik ataupun bakterisidal terhadap bakteri lain yang mempunyai kekerabatan sangat dekat. Selain itu, bakteriosin tersusun atas unit-unit asam amino sehingga aman dan relatif mudah didegradasi oleh sistem pencernaan tubuh. Bakteriosin merupakan protein hasil ekspresi suatu gen bakteri, oleh karena itu efektifitas produksi bakteriosin sangat tergantung pada kondisi yang memungkinkan terjadinya ekspresi gen yang bersangkutan. Mortvedt-Abilgaard et al.,(1995) membuktikan bahwa suatu strain bakteri yang mempunyai aktivitas bakteriosinogenetik bila ditambahkan pada suatu bahan pangan aktivitas antibakterinya menurun, bahkan dalam beberapa kasus menjadi tidak aktif. Hal ini membuktikan bahwa ekspresi suatu gen menyandi bakteriosin sangat ditentukan oleh faktor lingkungan dimana bakteri tersebut di atas.

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan jenis bakteri yang telah lama dikenal mampu memperpanjang masa simpan bahan pangan, karena kemampuannya dalam menghasilkan senyawa antibakteri seperti asam laktat, hidrogen peroksida, diasetil dan bakteriosin. Bakteriosin adalah salah satu senyawa antibakteri yang dihasilkan bakteri asam laktat yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan pengawet alami karena kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri lain.

Bakteriosin dapat dihasilkan oleh berbagai spesies bakteri asam laktat maupun bakteri lain selain bakteri asam laktat. Namun beberapa penelitian menunjukkan bahwa umumnya bakteri asam laktat. Namun beberapa penelitian menunjukkan bahwa pada umumnya bakteri asam laktat lebih umum digunakan sebagai penghasil bakteriosin dibandingkan bakteri lain, hal ini disebabkan karena bakteri asam laktat telah terbukti sebagai bakteri yang aman yang telah lama terlibat dalam proses fermentasi bahan pangan. Mekanisme penghambatan bakteriosin pada dasarnya belum diketahui secara pasti namun ada beberapa dugaan tentang mekanisme penghambat bakteriosin terhadap bakteri lain. Lewus (1991) mengemukakan bahwa hilangnya energi gerakan proton melalui membran sel merupakan salah satu mekanisme aksi bakterisidal bakteriosin. Studi kinetik telah membuktikan bahwa model penghambatan bakteriosin

terhadap reseptor permukaan sel sensitif adalah mengikuti hukum kinetik inaktivasi tunggal (single-hit inactivation) yaitu satu molekul tunggal bakteriosin dapat membunuh satu sel sensitif (Wendt, 1970).

Pada penelitian ini digunakan bakteri asam laktat *Streptococcus* Sp, yang diharapkan memiliki kemampuan tinggi dalam menghasilkan bakteriosin. Tahap selanjutnya adalah memiliki kemampuan tinggi dalam menghasilkan bakteriosin, tahap selanjutnya adalah melakukan ekstraksi, purifikasi dan karakterisasi dari bakteriosin yang dihasilkan .

Perumusan Masalah

1. Apakah Optimasi pH dan suhu pada medium MRS dapat mempengaruhi produksi bakteriosin oleh *Streptococcus* sp.
2. Apakah efek bakteriosin dari BAL yang ditumbuhkan pada media MRS dapat mempengaruhi pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui optimasi pH dan suhu pada medium MRS dapat mempengaruhi produksi bakteriosin oleh *Streptococcus* sp.
2. Untuk mengetahui apakah efek bakteriosin dari BAL yang ditumbuhkan pada media MRS dapat mempengaruhi pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini adalah

1. Dapat mengetahui produksi bakteriocin dari *Streptococcus* sp dan aktivitas anti bakterinya
2. Menambah pengetahuan tentang bakteri asam laktat
3. Menambah wawasan ilmu pengetahuan tentang bakterioicin

METODE PENELITIAN

Materi

Sumber mikrobial

Isolat BAL diisolasi dari saluran pencernaan ikan.

Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan adalah MRS broth (merk Oxoid dan Pronadisa), aquades, NaOH dan HCl, garam empedu (*bile salt* merk Oxoid), larutan aseton aldehid, MRS cair, sodium thioglycollate, oxgall, aseton aldehid, serum/sampel, khloroform, asam sulfat asetat anhidrit, acetone alkohol, H₂SO₄, sodium tarocholat, ethyl asetate fufuraldehyde, asam asetat glacial, asam kholat

Alat

Peralatan yang digunakan antara lain tabung oven, spektrofotometer, alat-alat gelas, pH meter, water-bath, erlenmeyer, sentrifuge, kertas saring milipore, kertas saring watman, freezer, pipet mikro, timbangan analitik, stirer, kompor listrik, fermenter (tabung Hungate, botol volume 500 ml dan jar fermenter), laminar, ose, lampu spiritus, autoclave, tabung cuvet, tabung miring, tabung lin.

Metoda

1. Pembuatan Medium

Medium MRS dibuat dari 5, 2 gram MRG dalam 100 ml aquades. Medium ditempatkan pada pH 6,5 dengan menggunakan NaOH atau HCL. Medium untuk analisis enzimatik terdiri dari mineral I, mineral II, ekstrak yeast, cystein HCL, rezasurin, cairan rumen, aquades serta substrat laktosa untuk uji aktivitas laktase. Bahan dimasukkan ke dalam erlenmeyer kecuali substrat dan cystein HCL, digojok sampai larut dan pH ditetapkan 6,8 – 7, kemudian ditambah rezasurin dan dididihkan selama tiga kali pendidihan. Medium dikondisikan anaerobik dengan mengalirkan gas CO₂. sedangkan untuk mensterilkan medium

dipanaskan dalam autoklaf dengan suhu 121° C selama 15 menit. Medium untuk *Staphylococcus aerus* dengan *Nutrien Agar Broth* 2 gram / 100 ml aquades yang disterilisasi dengan dioutoklaf 121° selama 15 menit.

2. Isolasi Mikrobial

Mikrobia diambil secara aseptis dari saluran pencernaan ikan, kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer yang berisi medium MRS. Erlenmeyer diinkubasikan pada suhu 38°C selama 24 jam. Kemudian dilakukan pengenceran 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5} secara berurutan dan masing-masing pengenceran ditumbuhkan pada medium padat dalam petridisk dengan cara *spread plate*. Petridisk dimasukkan kedalam anaerobik Jordan jar yang telah diberi generating kit untuk membuat suasana anaerob, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 38°C. penanaman mikrobial dilakukan dengan tiga kali ulangan.

Koloni yang tumbuh terpisah dipilih dan satu koloni diambil dengan ose kemudian ditanam dalam petridisk dalam suasana anaerobik. Isolat yang didapat ditumbuhkan dalam medium pengkayaan dengan media cair.

3. Seleksi Mikrobial

Mikrobia yang telah ditumbuhkan dan dikayakan siap untuk diseleksi. Seleksi meliputi uji katalase, uji tipe fermentasi, uji gram staining, pengukuran pH, uji kadar laktat serta bentuk morfologi. Selanjutnya perhitungan kadar laktat pada lima isolat dengan kadar laktat tertinggi. Isolat yang menunjukkan kadar laktat terbaik digunakan untuk perlakuan pada air susu sapi sebagai sediaan probiotik BAL.

4. Pengujian Bakteriosin

Ekstraksi bakteriosin dilakukan pada medium susu sapi yang mempunyai kadar asam laktat tertinggi pada jam ke- 48. sebagai kontrol dan pembanding dilakukan pengujian ekstraksi bakteriosin dari medium MRS. Pengujian bakteriosin menggunakan metode Turbidumetric Assay (Davidson Parish, 1989).

5. Variabel Yang Diamati

a. Uji Kadar Bakteriosin

Kadar bakteriosin diamati pada isolat pilihan BAL AST 6 . pertama-tama dilakukan produksi bakteriosin yang dapat ditemukan dalam metabolit ekstraseluler. Ekstraksi metabolit ekstraseluler dilakukan dengan sentrifugasi 20.000 rpm selama 15 menit, supernatan diambil dan disentrifugasi kembali pada 20.000 rpm selama 15 menit. Pengukuran produksi bakteriosin menggunakan metode *Turbidimetric Assay* (Davidson dan Parish, 1989 yang disitasi oleh Djafar, 1994). Metabolit ekstraseluler bakteri yang steril dicampur dengan medium MRS dengan pH 6,5 (V/V= 1:1) dalam fermentor, kemudian diberi biakan *Staphylococcus Aureus* FNCC 158 yang telah ditumbuhkan pada medium Nutrien broth, sebanyak 1%. Setelah itu fermentor diinkubasi pada suhu 37° C. pengambilan sampel dilakukan jam ke- 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 36, 42 dan 60, kemudian diukur optical density (OD) pada panjang gelombang 600 nm untuk mengetahui pertumbuhannya. Pada setiap pengamatan sampel diukur nilai derajat keasamannya (pH), dari data pertumbuhan setiap pengamatan digunakan untuk mengetahui grafik pertumbuhan bakteri kontrol *Staphylococcus aureus*.

Kontrol berupa medium yang diinokulasi dengan *Staphylococcus aureus* FCNN 158 sebanyak 1 % tanpa penambahan metabolit ekstraseluler (diganti dengan aquades steril). Penghambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* FNCC 158 diukur dengan melihat adanya perpanjangan fase lag dari sel yang diberi metabolit ekstraseluler atau membandingkan tingkat pertumbuhan akhir sel yang diberi metabolit ekstraseluler dengan kontrol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari lima isolat yang mempunyai kadar laktat tertinggi yaitu Isolat AST 6 dilakukan uji kemampuan hidup pada pH dan suhu yang berbeda serta kemampuan memproduksi anti bakteri dengan uji bakteriosin terhadap *Staphylococcus aceus*.

Uji ketahanan Isolat BAL AST 6 pada berbagai pH dan suhu. Perlakuan pH yaitu di uji ketahanannya pada pH 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, dan 9 terlihat pada table 2.

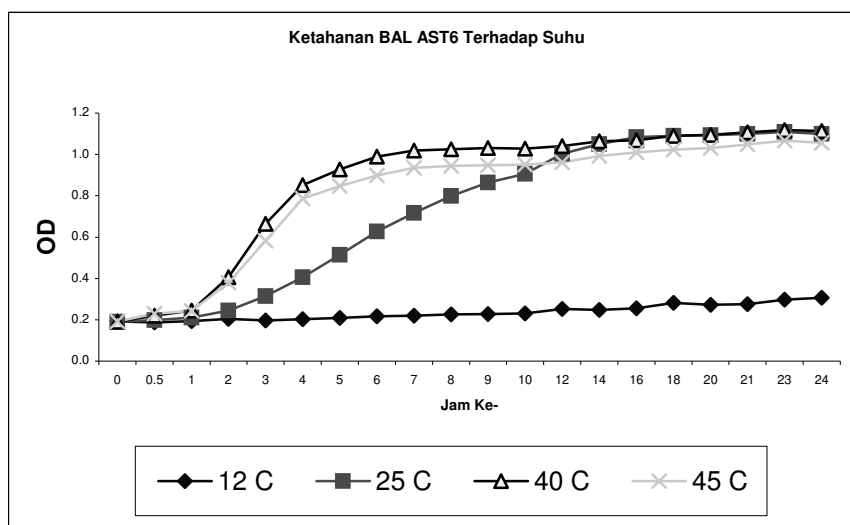
Sedangkan perlakuan suhu dilakukan pengamatan pada suhu lemari es (12°C) suhu kamar, serta suhu 40°C dan 45°C. Seperti terlihat pada table 1.

Tabel. 1. Ketahanan BAL AST6 Terhadap Suhu

	JAM KE-										
SUHU	0	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8	9
12°C	0,192	0,187	0,194	0,204	0,196	0,203	0,209	0,217	0,220	0,226	0,227
20°C	0,190	0,198	0,210	0,245	0,315	0,405	0,514	0,627	0,717	0,799	0,864
40°C	0,190	0,220	0,244	0,406	0,664	0,852	0,927	0,990	1,019	1,025	1,031
45°C	1,920	0,229	0,243	0,380	0,582	0,787	0,847	0,898	0,935	0,944	0,948

	JAM KE-								
SUHU	10	12	14	16	18	20	21	23	24
12°C	0,230	0,253	0,247	0,255	0,282	0,273	0,276	0,298	0,307
20°C	0,906	1,004	1,050	1,084	1,090	1,093	1,100	1,109	1,099
40°C	1,028	1,041	1,064	1,069	1,090	1,094	1,107	1,118	1,113
45°C	0,951	0,961	0,993	1,010	1,024	1,031	1,049	1,067	1,057

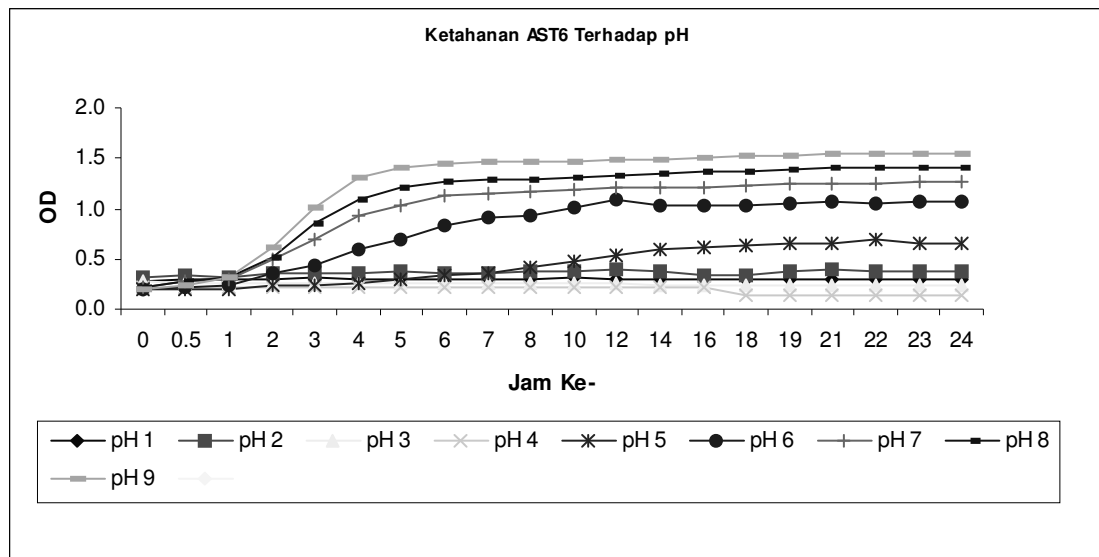
Grafik 1. Ketahanan BAL AST6 Terhadap Suhu



Tabel. 2. Ketahanan BAL AST6 Terhadap Ph

	Jam Ke-									
	10	12	14	16	18	19	21	22	23	24
pH 1	0,310	0,302	0,301	0,298	0,290	0,290	0,290	0,291	0,290	0,292
pH 2	0,382	0,404	0,374	0,336	0,346	0,379	0,389	0,382	0,384	0,385
pH 3	0,254	0,257	0,244	0,246	0,238	0,242	0,244	0,245	0,245	0,243
pH 4	0,220	0,219	0,215	0,214	0,139	0,140	0,140	0,139	0,139	0,138
pH 5	0,480	0,536	0,589	0,610	0,624	0,644	0,644	0,692	0,652	0,655
pH 6	1,015	1,088	1,035	1,039	1,038	1,057	1,063	1,058	1,064	1,071
pH 7	1,186	1,206	1,204	1,216	1,224	1,241	1,254	1,256	1,260	1,269
pH 8	1,314	1,334	1,347	1,364	1,373	1,380	1,398	1,402	1,403	1,407
pH 9	1,474	1,493	1,494	1,512	1,519	1,523	1,537	1,541	1,543	1,547

Grafik 2. Ketahanan AST6 Terhadap pH



BAL AST 6 hasil isolasi ini termasuk bakteri mesofilik, hidup di saluran pencernaan hewan non ruminansia, sesuai dengan pendapat Peterson (1992) bakteri mesofilik tumbuh medium optimum pada suhu 20 – 40°C, dengan suhu minimum pertumbuhan 10 – 20°C, dengan suhu minimum 10 – 20°C dan suhu maksimum 40 – 45°C. Dengan diketahui kisaran suhu pertumbuhan akan memudahkan dalam proses aplikasi selanjutnya.

Dari uji pertumbuhan dan ketahanan hidup pada kondisi tertentu memberikan informasi atau karakter dari isolat yang telah diperoleh, dimana BAL AST 6 mampu bertahan pada pH rendah, seperti yang dinyatakan oleh Axelsson (1998) dimana BAL bersifat mikroaeroleran dan asidotoleran.

A. Bakteriosin

Aktivitas penghambatan *Staphylococcus aureus* FNCC 158 oleh ekstrak produk fermentasi BAL terlihat pada gambar berikut.

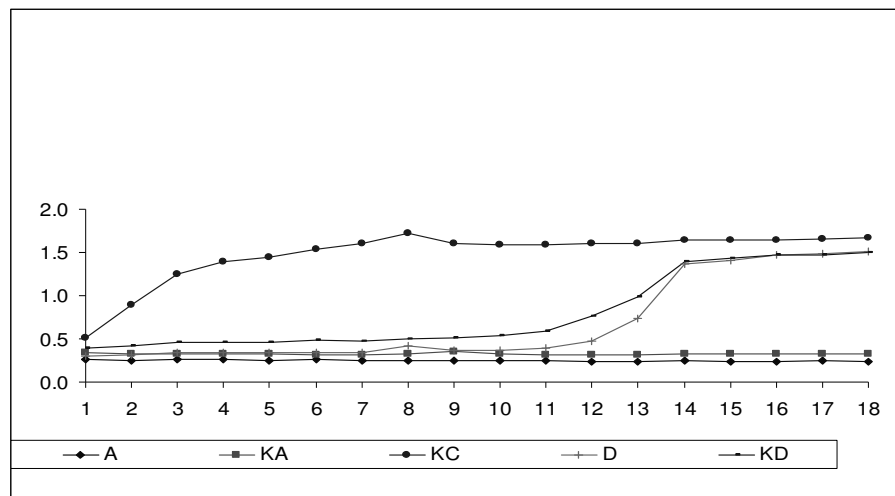
Tabel. 3. Data Uji Bakteriosin Ast6 Terhadap *Stapilococcus* Berdasarkan Suhu

WAKTU	SUHU							
	A	KA	B	KB	C	KC	D	KD
1	0.267	0.340	0.255	0.369	0.310	0.516	0.306	0.400
2	0.247	0.328	0.265	0.423	0.458	0.891	0.320	0.417
3	0.257	0.326	0.332	0.646	0.982	1.250	0.338	0.455
4	0.264	0.324	0.368	0.764	0.843	1.398	0.338	0.459
5	0.250	0.329	0.468	0.975	1.389	1.445	0.336	0.467
6	0.258	0.319	0.567	1.106	1.472	1.536	0.340	0.484
7	0.244	0.313	0.735	1.152	1.564	1.609	0.342	0.479
8	0.251	0.327	0.638	1.239	1.628	1.723	0.422	0.504
9	0.255	0.356	1.063	1.289	1.654	1.603	0.366	0.517
10	0.251	0.324	1.155	1.363	1.683	1.598	0.370	0.542
11	0.250	0.322	1.233	1.437	1.699	1.593	0.399	0.599
12	0.239	0.319	1.309	1.518	1.688	1.604	0.475	0.766
13	0.241	0.319	1.377	1.577	1.667	1.612	0.734	0.993
14	0.248	0.332	1.528	1.661	1.716	1.647	1.370	1.400
15	0.243	0.325	1.541	1.464	1.721	1.647	1.410	1.439
16	0.243	0.328	1.573	1.663	1.723	1.650	1.475	1.473
17	0.244	0.329	1.585	1.677	1.734	1.662	1.484	1.479
18	0.241	0.323	1.601	1.673	1.741	1.665	1.507	1.501

Tabel. 4. Jumlah Sel Bakteriosin Ast6 Terhadap *Stapilococcus* Berdasarkan Suhu

JAM KE-	JUMLAH SEL							
	A	KA	B	KB	C	KC	D	KD
1	0,001	0,001	0,075	0,072	0,080	0,064	0,067	0,061
2	0,000	0,000	0,079	0,074	0,075	0,046	0,070	0,064
3	0,001	0,000	0,079	0,064	0,047	0,026	0,073	0,065
4	0,002	0,000	0,082	0,061	0,060	0,018	0,078	0,069
5	0,001	0,000	0,081	0,050	0,025	0,016	0,084	0,074
6	0,001	0,000	0,080	0,044	0,021	0,010	0,090	0,078
7	0,000	0,001	0,072	0,043	0,015	0,005	0,097	0,085
8	0,001	0,000	0,088	0,039	0,010	0,005	0,099	0,091
9	0,001	0,003	0,054	0,038	0,009	0,006	0,114	0,098
10	0,001	0,000	0,050	0,034	0,006	0,007	0,126	0,107
11	0,001	0,000	0,046	0,030	0,005	0,009	0,139	0,113
12	0,000	0,001	0,042	0,022	0,008	0,009	0,147	0,105
13	0,000	0,001	0,037	0,016	0,012	0,009	0,129	0,085
14	0,001	0,002	0,015	0,002	0,005	0,004	0,027	0,020
15	0,001	0,001	0,015	0,052	0,005	0,005	0,024	0,016
16	0,001	0,002	0,009	0,003	0,006	0,005	0,011	0,009
17	0,002	0,003	0,008	0,002	0,004	0,002	0,012	0,011
18	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Grafik 3. Data Uji Bakteriosin Pada *Staphylococcus* Berdasarkan Suhu



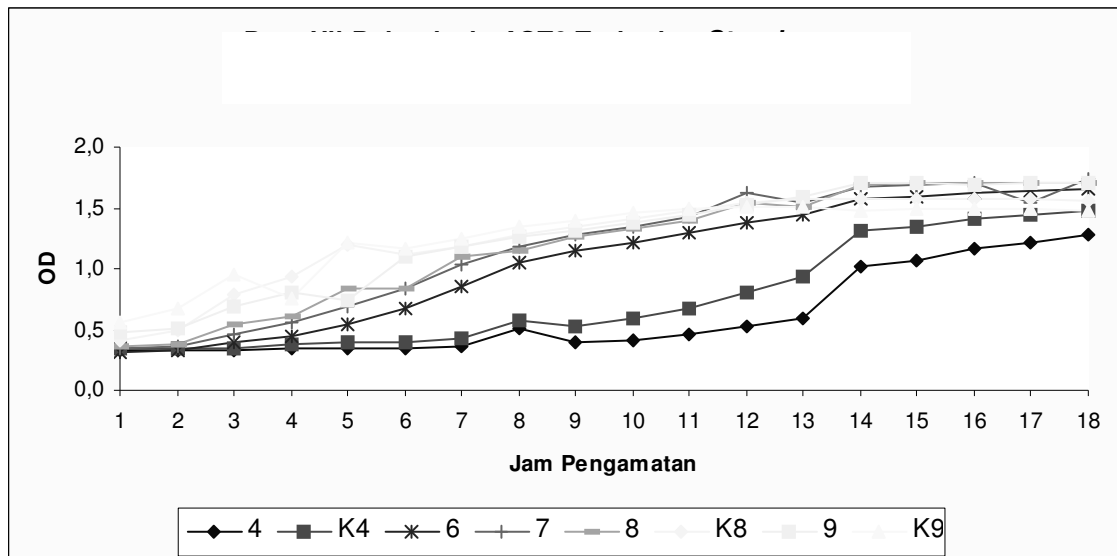
Tabel. 5. Data Uji Bakteriosin Ast6 Terhadap *Stapilococcus* Berdasarkan pH

WAKTU	pH											
	4	K4	5	K5	6	K6	7	K7	8	K8	9	K9
1	0.328	0.342	0.303	0.331	0.310	0.365	0.346	0.379	0.361	0.406	0.469	0.556
2	0.329	0.345	0.308	0.350	0.326	0.405	0.356	0.446	0.381	0.491	0.502	0.669
3	0.333	0.349	0.329	0.403	0.392	0.622	0.465	0.683	0.535	0.782	0.690	0.958
4	0.339	0.372	0.341	0.460	0.449	0.739	0.555	0.861	0.614	0.939	0.796	0.747
5	0.343	0.387	0.357	0.443	0.545	0.887	0.695	0.759	0.842	1.193	0.738	1.216
6	0.350	0.392	0.399	0.633	0.673	0.737	0.833	1.127	0.842	1.117	1.104	1.159
7	0.356	0.429	0.473	0.834	0.850	1.121	1.030	1.272	1.098	1.177	1.178	1.244
8	0.506	0.570	0.559	0.956	1.046	1.219	1.185	1.028	1.144	1.280	1.266	1.341
9	0.396	0.528	0.654	1.066	1.148	1.264	1.271	1.424	1.260	1.338	1.318	1.395
10	0.418	0.592	0.747	1.159	1.219	1.335	1.343	1.493	1.330	1.408	1.382	1.466
11	0.456	0.675	0.889	0.871	1.291	1.408	1.421	1.552	1.389	1.473	1.440	1.498
12	0.521	0.803	1.075	1.333	1.381	1.498	1.618	1.450	1.547	1.543	1.531	1.504
13	0.596	0.941	0.862	1.386	1.442	1.546	1.542	1.678	1.509	1.567	1.584	1.505
14	1.010	1.311	1.505	1.524	1.582	1.648	1.678	1.749	1.693	1.570	1.709	1.472
15	1.064	1.352	1.525	1.475	1.595	1.639	1.686	1.744	1.700	1.567	1.705	1.495
16	1.162	1.414	1.558	1.561	1.620	1.642	1.709	1.752	1.705	1.567	1.692	1.493
17	1.216	1.445	1.573	1.576	1.632	1.649	1.546	1.754	1.698	1.567	1.707	1.487
18	1.280	1.475	1.591	1.594	1.654	1.656	1.742	1.757	1.700	1.561	1.703	1.477

Tabel. 6. Jumlah Sel Bakteriosin Ast6 Terhadap *Stapilococcus* Berdasarkan pH

WAKTU	JUMLAH SEL											
	4	K4	5	K5	6	K6	7	K7	8	K8	9	K9
1	0,053	0,063	0,072	0,070	0,075	0,072	0,078	0,077	0,074	0,064	0,069	0,051
2	0,056	0,066	0,075	0,073	0,078	0,074	0,082	0,077	0,078	0,063	0,071	0,048
3	0,059	0,070	0,079	0,074	0,079	0,065	0,080	0,067	0,073	0,049	0,063	0,032
4	0,063	0,074	0,083	0,076	0,080	0,061	0,079	0,060	0,072	0,041	0,060	0,049
5	0,067	0,078	0,088	0,082	0,079	0,055	0,075	0,071	0,061	0,026	0,069	0,019
6	0,072	0,083	0,092	0,074	0,075	0,071	0,070	0,048	0,066	0,034	0,046	0,024
7	0,077	0,087	0,093	0,063	0,067	0,045	0,059	0,040	0,050	0,032	0,044	0,019
8	0,070	0,082	0,094	0,058	0,055	0,040	0,051	0,066	0,051	0,026	0,040	0,012
9	0,088	0,095	0,094	0,053	0,051	0,039	0,047	0,033	0,044	0,022	0,039	0,008
10	0,096	0,098	0,094	0,048	0,048	0,036	0,044	0,029	0,041	0,017	0,036	0,001
11	0,103	0,100	0,088	0,090	0,045	0,031	0,040	0,026	0,039	0,011	0,033	0,003
12	0,108	0,096	0,074	0,037	0,039	0,023	0,018	0,044	0,022	0,003	0,025	0,004
13	0,114	0,089	0,122	0,035	0,035	0,018	0,033	0,013	0,032	0,001	0,020	0,005
14	0,054	0,033	0,017	0,014	0,014	0,002	0,013	0,002	0,001	0,002	0,001	0,001
15	0,054	0,031	0,017	0,030	0,015	0,004	0,014	0,003	0,000	0,002	0,001	0,005
16	0,039	0,020	0,011	0,011	0,011	0,005	0,011	0,002	0,002	0,002	0,004	0,005
17	0,032	0,015	0,009	0,009	0,011	0,003	0,098	0,001	0,001	0,003	0,002	0,005
18	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Grafik 4. Grafik Uji Bakteriosin Terhadap *Staphylococcus* Terhadap pH



Pada gambar 4 terlihat adanya perpanjangan fase dari *Staphylococcus aureus* FNCC 158 yang ditumbuhkan dengan medisum MRS dibanding dengan ekstrak produk fermentasi BAL yang ditumbuhkan pada media MRS. Aktivitas penghambatan terhadap *Staphylococcus aureus* FNCC 158 ditunjukkan dengan perpanjangan fase lag pada perlakuan dengan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada media yang ditambah ekstrak produk fermentas BAL dibanding dengan yang kontrol, ditunjukkan dengan perpanjangan fse lag pada perlakuan dengan ekstrak produk fermentasi BAL AST 6 dibanding dengan kontrol. Lewus dan Montville (1991) menyatakan bahwa bakteriosin adalah salah satu produk metabolit yang dihasilkan oleh BAL yang akan menghambat pertumbuhan bakteri lain, salah satunya adalah *Staphylococcus aureus*. Adanya perpanjangan fase lag pada perlakuan disbanding kontrol pada gambar 2. menunjukkan adanya aktivitas bakteriosin yang dihasilkan BAL AST 6 yang menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* FNCC 158.

Produk fermentasi yang diekstraksi dari BAL AST 6 denga medium MRS menunjukkan penghambatan sampai pada jam ke-12 dan 13 . Hal ini sependapat dengan yang dikemukakan oleh Lewus dan Montville (1991), bahwa

dalam suatu pengujian aktivitas bakteriosin tidak selamanya menunjukkan hasil yang sama, hal ini dapat dikarenakan tidak sensitifnya bakteri kontrol yang digunakan atau dapat juga karena metode dan medium yang digunakan tidak tepat.

Hasil penelitian Lewus dan Montville (1991) menjelaskan bahwa dari 22 isolat ternuatternyata 19 isolat yang diduga bersifat bakteriosiogenik hanya 2 isolat yang aktivitas antimikrobanya dapat dideteksi pada supernatan. Oleh karena itu mereka mengemukakan bahwa keberhasilan uji aktivitas antimikrobia selain ditentukan oleh isolat bakteri produsernya, juga sangat ditentukan oleh metode, media dan bakteri indicator yang digunakan.

Pada gambar 2. terlihat pula bahwa bakteriosin mampu menekan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* FNCC 158, pada saat mengalami fase eksponensial yang berarti saat bakteri tumbuh aktif, pada medium yang mengandung bakteriosin lebih rendah dibandingkan dengan kontrol.

Produksi bakteriosin mencapai maksimum pada akhir fase logaritma (awal stationer) dan fase pada selanjutnya akan terjadi penurunan produksi bakteriosin karena adanya produksi enzim-enzim proteolitik yang semakin meningkat.

Bakteriosin yang diproduksi selanjutnya diabsorpsi pada permukaan sel absorpsi sangat dipengaruhi oleh pH. Pada pH mendekati pH 6 absorpsi mencapai 93-100%. Absorpsi terendah ($\leq 5\%$) terjadi pada pH 1,5 – 2.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

BAL AST 6 menghasilkan bakteriosin sebagai metabolit ekstraseluler yang mampu menghambat dan menekan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* 158 yaitu dengan memperpanjang fase lag pertumbuhan bakteri.

Produksi bakteriosin mencapai maksimum pada akhir fase logaritma (awal stationer) dan fase pada selanjutnya akan terjadi penurunan produksi bakteriosin karena adanya produksi enzim-enzim proteolitik yang semakin meningkat.

Bakteriosin yang diproduksi selanjutnya diabsorpsi pada permukaan sel absorpsi sangat dipengaruhi oleh pH. Pada pH mendekati pH 6 absorpsi mencapai 93-100%. Absorpsi terendah ($\leq 5\%$) terjadi pada pH 1,5 – 2.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek bacteriosin dari Asam Laktat AST 6 ini terhadap bakteri patogen yang lain selain *staphyl aerus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Axelsson, L. 1998. Lactic Acid bacteria : Classification And Physiology. In : Lactic.
- Barnes, E. M. dan G. C. Mead. 1986. Anaerobic Bacteria in Habitats Other than Man. 1st edition. Black well publications. Oxford.
- Borris, R. 1987. Biology of Enzyme. Dalam: Biotechnology. Rehm. M. J. and Reed. G. (eds) Verlag Chemic. Weinheim. 7a: 37-62.
- Brock, T. dan Madigan. M. T. 1988. Biology of Microorganism. 8th ed. Prentice Hall. Inc., Englewood Cliffs. New Jersey.
- Eckner, K.F. 1992 Bacterocin and Food Applications.m J. Dairy Food and Environment Sanitation. 4 : 204-209.
- Fardias, S. 1988. Microbiologi Pangan. PAU Pangan dan Gizi. UGM. Yogyakarta.
- Frost, G. M and D.A Moss. 1987. Produktion Enzyme by Fermentasi. Dalam: Biotekchnology Rehm, M. J and Reed, G. (eds). Vol. 7a. Verlag Chemic, Weinheim.
- Gilliland, S.E. 1985 Bacterial Starter Culture for Foods. 5th ed. CRC. Press Inc. Florida.
- Jaminez-Diaz, R., Ruiz-Barba, J. L., Cathcart. D,P., Hollo, H., Nes, I, F., Stetten, K. H. dan Warmer P. J. 1993. Purification and Partial Amino Acid Sequence of Plantaricin S. a Bactericin Produced by Lactobacillus Plantarum LPCO 10.

- The Activiti of Which Depend on the Complementary Action of Two Peptides. *Appl Environ. Microbial.* 61 : 4459-4463.
- Kalchayanad, N., 1990. Extenssion of self life of vacuum packaged refrigerated fresh beef by bacteriocin of lactic acid bacteria. Ph.D. Theses, University Wyoming, Laramine.
- Klaver, F.A.M. and R Van der Meer. 1997. The Assumerd assimilation of cholesterol by *Lactobacilli* and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bile salt deconjugating activity. *Appl. Environ. Microbiol.* 59 (4) : 1120-1124.
- Lewus, C. B., Sun, S. and Montville, T.J. 1991. Detection of bacteriocins produced by alctic acid bacteria. *J. Microbiol. Methods.* 13:145-150.
- Lindgern, S. 196. Storage of waste products for animal feed. In : The Lactic Bacteria in Health and disease Vol.1, Brian J.B. Wood (Ed) Ipswich Book Company, England.
- McDonald. P., R. A. Edward. J . F. D. Greenhalgh and C. A. Morgan. 1995. Animal Nutrition Fifth edition. Longman Singapore Published (Pte) Ltd. Singapore.
- Mitsuoka. 19889. Microbes in the Testine Our Life long Partner. Yaklut Honsho Co. Ltd. Japan.
- Mortvedt-Abiguard, C.L..J. Nissen-Meyer. B. Jelle. B Grenov. M. Skaugen dan I. F. Nes. 1995 Production On pH Independent Bactericidal Activity Of Lactocin as Antibiotik From *Lactobacillus sake* L-45. *APPL. Eviron. Microbial.* 61: 175-179.
- Oh, S. S.H. Kim. R. W. Wirobo. 2000. Characerization and Purification of Bacteriocin Produced by a Potential Probiotic Cultur *Lactobacillus Acidophillus* 305C. *J Dairy Sci.* 83 : 2747-2752.
- Paat, P. C. 1999. Inokulasi Bakteri Asam Laktat yang Diperoleh Dari Kultur Campuran *Effective Microorganism* Pada Proses Silase Rumput Raja. Tesis Fakultas Peternakan. UGM. Yogyakarta.
- Rachman, A. 1989. Pengantar Teknologi Fermentasi. IPB. Bogor.

- Ray, B. and Daeschel. 1992. Foods and Microorganisms of concerns. In: Food Biopreservations of mikrobial Origin, CRC Press, London.
- Suyanandana, P., P. Budhaka, S. Sasanarakkil.. P. Saman.. P. Disayaboot.. Y. Cai. Dan Y. Benno. 1998. New Probiotic lactobacilli and Enterococci from Fish Intestine and Their Effect on Fish Production. Thailand Institute of Scientific and Technological Research. Thailand.
- Wendt, L. 1970. Mechanism of colicin action: Early events, J. Bacteriol. 104 : 1236-1241.
- Wibowo, J. 1993. Produksi Antibiotik Dengan Proses Fermentasi. Kumpulan Hand-Out Lokakarya. 11 sampai 26 Januari 1993. Pusat Antar Universitas Biotek. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta

Siti Umniyatie, Astuti, Bernadetta Octavia